
BIOCHEMICAL CALCULATIONS

How to Solve Mathematical Problems in General Biochemistry
Second Edition

IRWIN H. SEGEL

Department of Biochemistry and Biophysics
University of California
Davis, California

BEST AVAILABLE COPY

Authorized translation from English language edition
published by John Wiley & Sons, Inc., New York.

© 1979 日本精興出版社所有 成川書店

無断複数複製禁ずる。

English translation of BIOCHEMICAL CALCULATIONS (IRWIN H. SEGEL), page 251, line 1 from the bottom to page 252, line 4 from the bottom

Problem 4-4

The following measurement results were obtained as regards the substrate \rightarrow product ($S \rightarrow P$) reaction catalyzed by an enzyme. (a) Calculate V_{max} and K_m . (b) What is v when $[S]$ is $2.5 \times 10^{-4} M$ and $5 \times 10^{-4} M$? (c) Calculate v at $5.0 \times 10^{-4} M$ when enzyme concentration doubled. (d) In this Table, v was determined by measuring the concentration of product accumulated in 10 min. Confirm that v means a true initial (or "sokuten") rate.

$[S]$ (M)	v (fmol/l·min)
6.25×10^{-4}	15.0
7.50×10^{-4}	56.25
1.00×10^{-3}	60
1.00×10^{-3}	74.9
1.00×10^{-3}	75

Answer

(a) The best method to obtain V_{max} and K_m is to blot this data using any of the below-mentioned methods. However, in this Problem, it is understood that when $[S]$ becomes not less than 10^{-3} , v is not dependent on the change of $[S]$. In other words, in the range of from $[S]=10^{-3}$ to $10^{-1} M$, v must be a value very close to V_{max} .

$$V_{max} = 75 \text{ fmol/liter}^{-1} \text{ min}^{-1}$$

To solve K_m , v (any) and the corresponding $[S]$ need only be taken.

This book is dedicated with much love
to my sons Jonathan and Daniel

Copyright © 1968, 1976, by John Wiley & Sons, Inc.

All rights reserved. Published simultaneously in Canada.

No part of this book may be reproduced by any means, nor
transmuted, nor translated into a machine language with-
out the written permission of the publisher.

Library of Congress Cataloging in Publication Data

Segel, Irwin H.
1935-
Biochemical calculations.
Includes index.
1. Biochemical chemistry—Problems, exercises,
etc. I. Title.
QD815.S4 1975 574.1'970151 75-29140

ISBN 0-471-77421-9

Printed in the United States of America

10 9 8 7 6 5 4 3 2

シーケル 化学計算法

東京医科歯科大学助教授
自治医科大学教授
東京医科歯科大学校長
永井 裕 著
石倉 久之 訳
林 利彦 共

第2版



東京 廣川書店 発行

250 4. 解

$$\frac{k_1 [E]_0 \frac{[S]}{K_s} - k_{-1} [E]_0 \frac{[P]}{K_p}}{1 + \frac{[S]}{K_s} + \frac{[P]}{K_p}}$$

(5)

$$\frac{V_{\text{max}} \left(\frac{[S]}{K_s} - \frac{[P]}{K_p} \right)}{K_s \left(1 + \frac{[P]}{K_p} \right) + [S]}$$

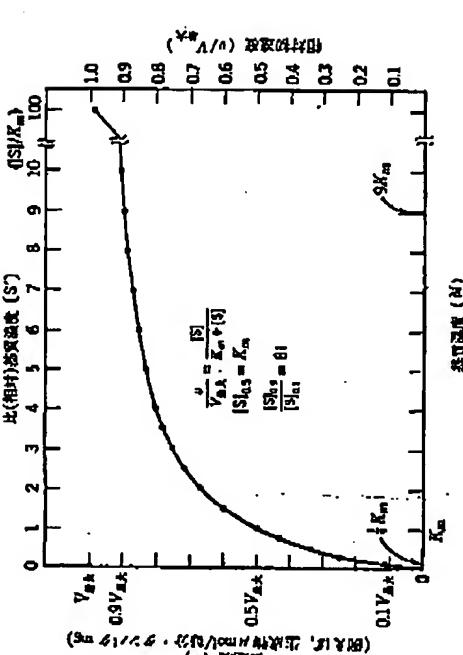
(6)

あるいは

ここで

$$K_{\text{max}} = \frac{V_{\text{max}} K_p}{V_{\text{max}} + K_p}$$

とおき



定常状態の表現式では K_s や V_{max} の代りに K_{max} や V_{max} を用いれば、同じような最終的な式が得られる。通常の分子中の $[S]$ の代りに、上式では $[S]$ と $[S]$ の平衡における値との差を用いる。分子中の K_s の項は基質に対する拮抗阻害剤として生成物が働いているようだけは正す。いかえると、正常的な初速度は次の平衡から得られなければならない。熱力学的運動力と生成物に結合している酵素量に依存する。拮抗阻害については後節でさらに詳しく説明する。

速度対基質濃度曲線

Henri-Michaelis-Menten の式から初速度を基質濃度に対してプロットしたときの曲線が描かれる。図 4-7 に示した曲線は直角双曲线で、漸近線は V_{max} と $-K_s$ である。この曲線の形は K_s や V_{max} の値に關係なく一定である。したがって、 V_{max} を 1 にしたとき、絶縁のどの2点をとっても、その2点での基質濃度の比は Henri-Michaelis-Menten の速度論に従うすべての結果で同じとなる。例えば V_{max} の 90% になると必要な基質と V_{max} の 10% になるに必要な基質の比は下に示すように常に 9 である。

$$\begin{aligned} \nu = 0.9 V_{\text{max}} \text{ のとき} \quad 0.9 &= \frac{[S]_{10}}{K_s + [S]_{10}} \quad [S]_{10} = 9 K_s \\ \nu = 0.1 V_{\text{max}} \text{ のとき} \quad 0.1 &= \frac{[S]_{90}}{K_s + [S]_{90}} \quad [S]_{90} = \frac{K_s}{9} \end{aligned}$$

図 4-7 の時 $[S]$ プロットの曲線の形は一定である。 $[S]_{10}/([S]_{10} + K_s)$ は K_s および V_{max} の絶対値とは無関係で常に 9 に等しい。

$$\frac{[S]_{10}}{[S]_{10} + K_s} = 9$$

図 4-3

(a) $[S]=4 K_s$, $[S]=6 K_s$, $[S]=9 K_s$ のとき $\nu = [S]_{10}/([S]_{10} + K_s)$ の比を計算せよ。

解答 (a) 代入しなくともすぐわかるがでるはずである。

$$[S]=4 K_s \text{ では } \nu = \frac{4}{5} V_{\text{max}}, \quad [S]=6 K_s \text{ では } \nu = \frac{6}{7} V_{\text{max}}, \quad [S]=9 K_s \text{ では } \nu = \frac{9}{10} V_{\text{max}}$$

(b) 上に示したより $[S]_{10}=9 K_s$ であり $[S]_{90}=K_s$ である。したがって $[S]_{10}/[S]_{90}$ は 9 で、 V_{max} や K_s の絶対値に無関係である。 $[S]_{10}=9 K_s$ のとき

図 4-4

酵素によって触媒される底質—生試物 ($S \rightarrow P$) の反応について下記の測定結果を
 得た (a) V_{max} と K_m を求めよ。 (b) $[S]$ が $2.5 \times 10^{-4} M$ より $5 \times 10^{-4} M$ のときのいはくらか、 (c) 酶素濃度が 2 倍になったとき、 $5.0 \times 10^{-4} M$ での α を求めよ。
 (d) ここにあげた表中の α は 10 分間に蓄積した生成物の量を過定して決めた。 α が
 最初 (あるいは“原点”) 濃度を表わしていることを確かめよ。

$[S]$	α
(M)	(nmol/ $M \cdot \text{min}$)
6.25×10^{-6}	15.0
7.50×10^{-5}	56.25
1.00×10^{-4}	60
1.00×10^{-3}	74.9
1.00×10^{-2}	75

解答

(a) V_{max} と K_m を得る最も良い方法は後に述べる方法のいずれかを用いてこのデータをプロットすることである。しかしこの問題の場合、 $[S]$ が $10^{-4} M$ 以上になると α は $[S]$ の変化に関係しないことがわかる。すなはち、 $[S]=10^{-4} M$ から $10^{-1} M$ の間では、 α は V_{max} に非常に近い値であるにちがいない。

$$V_{max}=75 \text{ nmol} \times \text{リットル}^{-1} \times \text{分}^{-1}$$

K_m について解くには、(a) (b) でも) とそれに対応する $[S]$ をとればよい。

$$\frac{\alpha}{V_{max}} = \frac{[S]}{K_m + [S]}$$

$$75 \times 10^{-4} = 60 K_m + 60 \times 10^{-4}$$

$$K_m = \frac{15 \times 10^{-4}}{60} = 0.25 \times 10^{-4}$$

$$K_m = 2.5 \times 10^{-4} M$$

この酵素が Henri-Michaelis-Menten の式に従う限り、他のどのデータの組み合せをとっても同じ答にならなければである。

(b) $[S]=2.5 \times 10^{-4} M = K_m$ では $\alpha=0.5 V_{max}$ すなはち

$$\alpha=37.5 \text{ nmol} \times \text{リットル}^{-1} \times \text{分}^{-1}$$

$$[S]=5.0 \times 10^{-4} M \text{ では}$$

$$\frac{\alpha}{V_{max}} = \frac{5 \times 10^{-4}}{(2.5 \times 10^{-4}) + (5 \times 10^{-4})} = \frac{5}{7.5} = \frac{5}{7.5} \times 100 \text{ nmol} \times \text{リットル}^{-1} \times \text{分}^{-1}$$

$[S]=K_m$ のときは、 α は $0.5 V_{max}$ であるけれども、 $[S]=2K_m$ のときは α が V_{max} にたるわけではないことに注意せよ。ここで扱っているのは直線関係でなくて、双曲線関係である。

(c) Henri-Michaelis-Menten の式は次のようになくことができる。

$$\alpha = \frac{[S]}{K_m + [S]} \times [E]$$

したがって、 α はどの基質濃度でも直線関係に正比する。 $[S]=5 \times 10^{-4} M$ で $[E]$ を 2 倍にすると V_{max} も 2 倍になるので、 α も 2 倍になる。

$$\therefore \alpha = 100 \text{ nmol} \times \text{リットル}^{-1} \times \text{分}^{-1}$$

(d) 基質濃度が活性測定中実質的に一定のままであるときのみ、すなはち、 $[S]$ のうちのほんの少しだけが消費されるときのみ、速度は真の初 (あるいは即時) 速度となると考えられる。 K_m に比べて基質濃度が相対的に高いときは問題はない。 $[S]$ がもっとも小さいときの速度の消失について検討しておこう。 $6.25 \times 10^{-4} M$ $[S]$ のときのみかけの α は $15 \text{ nmol} \times \text{リットル}^{-1} \times \text{分}^{-1}$ あるいは青くなると、10 分間に $150 \text{ nmol} \times \text{リットル} \times \text{分}^{-1}$ の P がたまる (そして 150 nmol の S が消失する)。

$$\frac{\alpha}{S \text{ の消滅量}} = \frac{150 \times 10^{-4} \text{ mol} / \text{リットル}}{6.25 \times 10^{-4} \text{ mol} / \text{リットル}} = \frac{0.150 \times 10^{-4}}{6.25 \times 10^{-4}}$$

$$= 0.024 \text{ もろいは } 2.4\%$$

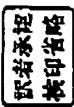
S のうちの 2.4% が消費されただけである。5% 以下はちょうどいい。

図 4-5

反応 $S \rightleftharpoons P$ の平衡定数は 5 である。ここに $[S]=2 \times 10^{-4} M$ および $[P]=3 \times 10^{-4} M$ の混合物があるとして。 $K_{eq}=3 \times 10^{-4} M$, $V_{max}=2 \mu\text{mol} \times \text{リットル}^{-1} \times \text{分}^{-1}$, $V_{max}=4 \mu\text{mol} \times \text{リットル}^{-1} \times \text{分}^{-1}$, (a) 適当な酵素を添加したとき、この反応はどうなる方向へ進むであろうか。(b) 反応が平衡に向って進みはじめるとときの初速度はいくらか。

シーゲル・生化学計算法

第一2版一



定価 平5,800.-

著者	永 石 林	井 舟 利	裕 之 彦	昭和46年 8月31日 初版発行 ①
著行者	廣 川 節 男			昭和54年 6月25日 第2版 1刷発行
著行者	廣 川 節 男			昭和55年 6月25日 第2版 2刷発行

新規文庫本 ISBN 4-88214-019-1

印 刊 所 新日本印刷株式会社
製 本 所 神田・若林・本店

発行所 株式会社 廣川書店

〒113-91 東京都文京区本郷3丁目27番14号
沿 線 東京 82694番
電 話 東京 (03) (815) 3651 代表

自然科学研究会員・高等医科学会員

Hirokawa Publishing Co.
27-14, Hongō-3, Bunkyo-ku, Tokyo

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER: _____**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.